

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
11 janvier 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 01/01948 A2**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup>: A61K 7/48

(21) Numéro de la demande internationale:  
PCT/FR00/01925

(22) Date de dépôt international: 5 juillet 2000 (05.07.2000)

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:  
99/08700 6 juillet 1999 (06.07.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US): IN-  
STITUT D'EVALUATION DERMATOPHYSIQUE  
[FR/FR]; 42, rue Monge, F-75005 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement): ROBERT,  
Ladislav [FR/FR]; 7, rue Jean-Baptiste Lully, F-94440  
Santeny (FR). ROBERT, Alexandre-Michel [FR/FR]; 41,  
rue François Couperin, F-94440 Santeny (FR).

(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet  
Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).

(81) États désignés (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional): brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée:

— Sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: COSMETIC COMPOSITION FOR MOISTURIZING AND PROTECTING ELASTINE FIBERS

(54) Titre: COMPOSITION COSMETIQUE POUR L'HYDRATATION ET LA PROTECTION DES FIBRES D'ELASTINES

(57) Abstract: The invention relates to a novel cosmetic approach consisting in the formation of a complex between elastine fibers and substances which are able to moisturize and/or increase the resistance of said fibers with respect to elastase-degradation. The aim of the invention is to provide a composition containing compounds such as trehalose in order to improve the elasticity of the skin and/or prevent aging.

(57) Abrégé: La présente invention concerne une nouvelle approche cosmétique qui consiste en la formation d'un complexe entre les fibres d'élastine et des substances capables d'hydrater et/ou d'augmenter la résistance desdites fibres à la dégradation par l'élastase. L'objectif est de fournir une composition comprenant des composés, tels que le tréhalose, pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou prévenir son vieillissement.

BEST AVAILABLE COPY

WO 01/01948 A2

## COMPOSITION COSMETIQUE POUR L'HYDRATATION ET LA PROTECTION DES FIBRES D'ELASTINE

5 La présente invention concerne une nouvelle approche cosmétique qui consiste en la formation d'un complexe entre les fibres d'élastine et des substances capables d'hydrater et/ou d'augmenter la résistance desdites fibres à la dégradation par l'élastase. L'objectif est de fournir une composition comprenant des composés, tels que le tréhalose, pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou prévenir son vieillissement.

10

L'élastine est le composé fibreux essentiel qui confère l'élasticité aux tissus. Les tissus conjonctifs, tels que la peau, la paroi des vaisseaux, le cartilage élastique et les ligaments sont des matériaux composites. Ils sont constitués de diverses macromolécules qui interagissent spécifiquement entre elles et qui forment la matrice extracellulaire (MEC).

15

Selon leur fonction, les macromolécules de la MEC font parties des deux classes suivantes :

- Les collagènes et l'élastine qui représentent les éléments fibreux,
  - les protéoglycannes, les glycosaminoglycannes, et les glycoprotéines de structure
- 20 qui constituent un matériel de remplissage interagissant avec les fibres de la MEC et les cellules.

Les cellules de tissus conjonctifs, notamment les fibroblastes, et les cellules musculaires lisses sont impliquées dans la biosynthèse des composants de la MEC.

25

La biosynthèse est régulée à différents niveaux (génétique et post-synthétique) dès la différenciation cellulaire dans l'embryon et pendant toute la durée de la vie. La composition de la MEC change avec l'âge, ce qui a pour conséquence de modifier la structure et d'altérer la fonction de la peau. Ces changements dans le temps sont partiellement intrinsèques par nature, et partiellement extrinsèques en fonction de

30 diverses conditions telles que la nutrition, les radiations, et l'exposition à diverses substances chimiques. Ainsi, les facteurs génétiques et environnementaux sont directement responsables des mécanismes impliqués dans le vieillissement de la peau (1-5).

Dans la peau jeune, le réseau fibreux élastique comprend les trois zones distinctes suivantes :

- Le derme superficiel qui contient des fines fibrilles formant des faisceaux verticaux,
- 5 - la couche intermédiaire,
- et le derme profond dans lequel on trouve des fibres matures moins orientées.

Ces variations de structure, d'orientation, et de forme illustrent les différences de composition chimique des fibres élastiques. Les changements liés au vieillissement des fibres élastiques sont caractérisés par leur fragmentation, suivie par un réarrangement horizontal. Cette fragmentation démontre qu'il existe une corrélation entre le vieillissement, la qualité et la quantité, et la nature des fibres élastiques dans la peau. On note également des modifications d'orientation des fibres élastiques qui sont accompagnées par une augmentation relative de leur densité de surface (7-11).

15 Ces changements morphologiques et quantitatifs sont confirmés par la biologie moléculaire. En effet, des expériences d'amplification RT-PCR ont permis de mettre en évidence que les ARNm de la tropoélastine (précurseur monomérique des fibres élastiques) augmentent avec l'âge des donneurs de fibroblastes de la peau (12). Il apparaît donc que les modifications des fibres élastiques causées par le vieillissement proviennent de la régulation des mécanismes de biosynthèse de l'élastine. Toutefois, 20 les modifications post-synthétiques, telles que la modification de l'activité de l'élastase, les dommages créés par les radicaux libres produits par radiation UV, et l'interaction avec des composés lipidiques et le calcium sont également importants, et peuvent être considérés comme une cible d'action privilégiée pour améliorer l'élasticité de la peau 25 (13-15).

Des expériences physico-chimiques ont démontré que l'élasticité des fibres d'élastine est dépendante de l'entropie du système. En effet, il est généralement admis que l'entropie baisse avec l'étirement des fibres. Ceci est dû principalement à deux 30 facteurs :

- L'interaction entre les fibres d'élastine et l'eau,
- le degré de liberté des chaînes peptidiques.

- Ces paramètres sont influencés par les macromolécules environnantes avec lesquelles les peptides d'élastine sont en interaction (16, 17). Une perte d'élasticité des fibres d'élastine a été constatée lorsqu'elles sont séchées (17, 18). Généralement, les fibres conservent leur élasticité lorsque leur poids est dû pour au moins 40% à la présence de
- 5 molécules d'eau. La composition en acides aminés de l'élastine montre clairement une prédominance d'acides aminés aliphatiques et hydrophobes. Ainsi, lorsque les fibres élastiques sont étirées, la surface de contact entre les molécules d'eau et le squelette peptidique hydrophobe augmente. Ceci induit une augmentation de l'ordre des molécules d'eau qui ont tendance à réduire au minimum leur contact avec la surface
- 10 hydrophobe de l'élastine. Cette augmentation d'ordre, provenant de l'augmentation du nombre de liaisons hydrogènes entre les molécules d'eau, a pour conséquence une baisse sensible de l'entropie du système élastine-eau. Les fibres élastiques ont donc tendance à se contracter spontanément sous l'action des forces entropiques du système.
- 15 Une autre conséquence de l'étirement des fibres réside en la baisse du degré de liberté des chaînes peptidiques, ce qui représente aussi une baisse de l'entropie (augmentation de l'ordre du système) (16). Le relâchement des fibres s'accompagne donc d'une augmentation du désordre du système peptidique qui s'additionne avec l'entropie du système eau-élastine.
- 20 Ainsi, l'environnement des fibres élastiques joue un rôle prépondérant dans le processus de l'élasticité de la peau et de son vieillissement.

- L'élastogénèse dépend également pour une grande part de l'action de plusieurs glycoprotéines avec la tropoélastine. Cette interaction est critique en ce qui concerne
- 25 l'arrangement spatial des fibres élastiques et leur subséquente réticulation due à l'action de la lisyloxydase. Ces glycoprotéines de structure sont riches en acides aminés polaires donc hydrophiles qui jouent un rôle important pour attirer les molécules d'eau nécessaires à l'élasticité de l'élastine (19). Or, il a été observé que le nombre de microfibrilles de glycoprotéines qui entourent les fibres élastiques baissent avec l'âge.
- 30 En tant que telle, cette baisse pourrait être en partie responsable de la perte d'eau au sein de fibres élastiques vieillissantes.

Des polysaccharides hydrophiles peuvent également interagir avec l'élastine (20).

Le cas de l'hyaluronane est d'un intérêt tout à fait spécial. En effet, il s'agit d'un polysaccharide de haut poids moléculaire qui forme un réseau retenant plus de dix fois son poids en eau. De plus, cette molécule peut réguler les trafics moléculaires (21). Il est tout à fait surprenant de constater la présence de molécules hydrophiles interagissant avec une protéine hydrophobe telle que l'élastine. Il a été déterminé que la structure tertiaire du hyaluronane ressemble à une bande à deux faces, une face étant majoritairement hydrophobe, l'autre face étant hydrophile (22). Cette conformation explique l'affinité du hyaluronane pour l'élastine (23).

En outre, il a été montré que l'activité des élastases augmente avec l'âge (24 et 25). Ces élastases dégradent l'élastine et produisent des peptides qui sont détectés et quantifiés dans le sang (26 et 27). Ces peptides sont alors capables de stimuler le récepteur de l'élastine qui se situent à la surface des fibroblastes. Certaines cellules, telles que les monocytes attirées par l'inflammation due aux radiations UV, augmentent la sécrétion de l'élastase et la production de radicaux libres. Les produits de dégradation de l'élastine augmentent donc l'altération des composants de la peau au cours du vieillissement.

A partir de ces résultats, on peut dresser le modèle suivant pour expliquer la perte d'élasticité des fibres élastiques lors du vieillissement :

- Pendant l'élastogénèse, les fibres élastiques se développent dans un environnement riche en composés hydrophiles (glycoprotéines et protéoglycannes). Avec le temps, ces composés hydrophiles se raréfient car leur synthèse diminue, et leur dégradation augmente.
- La diminution de la teneur en eau des fibres élastiques, qui est corrélée avec leur baisse d'élasticité, est expliquée par la perte d'élasticité entropique du système. Au même moment, des lipides et du calcium s'accumulent à l'intérieur des fibres élastiques, ce qui favorise encore plus la perte d'élasticité, et expose les fibres à l'action de l'élastase.

30

L'utilisation du tréhalose, un composé préféré de la présente invention, a été décrite en cosmétique notamment dans les documents suivants : EP 180 559, JP 97 77650, JP 96

92035, JP 94 40845, et US 4,839,164. Toutefois, aucun de ces documents ne décrit, ni ne suggère l'invention telle que définie ci-après.

## DESCRIPTION

5

Ainsi, la présente invention concerne une nouvelle approche cosmétique pour traiter et/ou prévenir le vieillissement de la peau, qui consiste en la formation d'un complexe entre les fibres élastiques et des substances de faible poids moléculaire capables d'interagir avec l'élastine, et d'induire une haute capacité de liaison avec les molécules d'eau.

10

De telles substances, interagissant avec les fibres élastiques, remplacent les glycoprotéines et les glycosaminoglycannes naturellement présentes dans la peau jeune, qui disparaissent avec l'âge. De manière avantageuse, un objectif est de fournir des composés qui permettent également d'augmenter la résistance des fibres à la dégradation par l'élastase.

15

Un aspect de la présente invention concerne un procédé de criblage de molécules susceptibles d'améliorer l'élasticité de la peau caractérisée en ce qu'il comporte les étapes suivantes :

20

- a) On fait interagir une ou plusieurs molécule(s) sur des fibres d'élastine purifiées,
- b) on détermine leur effet sur l'hydratation et/ou sur la résistance des fibres vis-à-vis de l'élastase,
- c) on sélectionne une ou plusieurs molécule(s) présentant un effet positif sur l'hydratation et/ou sur la résistance des fibres.

25

L'effet desdites molécules sur les fibres d'élastine purifiées peut être déterminé par mesure du diamètre des fibres traitées comparé à celui des fibres non traités.

Essentiellement l'étape a) consiste à :

30

- Peser le poids exact des tubes.
- Mettre l'élastine fibreuse/ tube + du sérum physiologique ou autre tampon ou solution équivalente.

- Ajouter la substance à tester.
- Incuber les échantillons.
- Centrifuger.

5    Ensuite, l'étape b) consiste en une mesure de la largeur des fibres d'élastine (= largeur des fibres traitées et non traitées ; avant l'hydrolyse par l'élastase, et des fibres hydrolysées. A cet effet, on peut observer les fibres d'élastine sous microscope avec un agrandissement de 400 X.. Pour chaque champ, la largeur précise de chaque fibre est mesurée. Les mesures peuvent être réalisées par analyse d'image semi-automatique à

10   l'aide d'une cellule de Malassez.

L'étape b) peut également consister en un pesage du complexe fibre-molécule-eau retenu et du complexe témoin fibre-eau, et aussi en la détermination de la quantité de produits de dégradation par l'action de l'élastase des fibres présents dans le surnageant par mesure colorimétrique (dosage des peptides selon Lowry et al. à 280 nm) et/ou par

15   lecture de la densité optique.

En ce qui concerne l'étape c), il s'agit de sélectionner des molécules augmentant le diamètres et/ou le poids des fibres, et/ou des molécules pour lesquelles il y a une diminution de la quantité de produit de dégradation dû à l'action de l'élastase.

20   Ce procédé peut être adapté à l'identification de molécules capables d'hydrater les fibres d'élastine. A cet effet, le procédé comprend les étapes suivantes :

a) Purification, séchage des fibres d'élastine à haute température, et refroidissement en dessiccateur,

b) addition aux fibres obtenues à l'étape a) d'une ou plusieurs molécule(s) dans une

25   solution aqueuse,

d) élimination de la solution en excès par centrifugation, et pesage du complexe fibre-molécule-eau retenu,

e) sélection d'une ou plusieurs molécule(s) qui favorisent la rétention d'eau par les fibres.

30   De préférence, les molécules à tester sont polaires et de faible poids moléculaire. La sélection à l'étape d) peut être entreprise en calculant la différence en poids des fibres

conduisant à des ratios [élastine - substances / élastine] et [élastine - substances (hydratées) / élastine - substances (séchées)] qui varient pour chaque molécule testée.

5 Ce procédé peut également être adapté à l'identification de molécules capables de protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase. Dans cette alternative, le procédé comprend les étapes suivantes :

- a) Mise en contact des fibres d'élastine purifiées avec une ou plusieurs molécule(s) de faible poids moléculaire dans une solution aqueuse contenant de l'élastase,
- b) centrifugation et détermination de la quantité de produits de dégradation des fibres  
10 présents dans le surnageant par mesure colorimétrique et/ou par lecture de la densité optique,
- c) sélection d'une ou plusieurs molécule(s) qui protègent les fibres contre la dégradation par l'élastase.

15 Cette sélection peut être réalisée en calculant la capacité de chaque molécule à diminuer la quantité de fragments peptidiques obtenus par unité d'élastase dans un intervalle de temps donné.

20 De plus, le procédé selon l'invention peut être mise en œuvre pour le criblage de molécules capables à la fois d'hydrater les fibres d'élastine et de protéger lesdites fibres contre l'action de l'élastase. En ce sens, on peut mettre en œuvre en parallèle ou en série les procédés tels que décrits ci-dessus.

25 Un autre aspect de la présente invention porte sur une molécule susceptible d'être obtenue par les procédés mentionnés ci-dessus, et sur l'utilisation d'une molécule ou d'une combinaison desdites molécules pour hydrater les fibres d'élastine âgées et/ou de protéger lesdites fibres contre l'action de l'élastase. Ces molécules sont utiles pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou lutter contre son vieillissement.



Dans un mode préféré de réalisation de l'invention, la molécule évoquée précédemment est une molécule sélectionnée parmi le tréhalose, le rétinol et ses dérivés, l'acide rétinoïque et des dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase et le  
5 lactose, pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger lesdites fibres contre l'action de l'élastase.

Ce composé est utile pour la préparation d'une composition cosmétique destinée à l'amélioration de l'élasticité de la peau et/ou lutter contre son vieillissement. La composition selon l'invention est particulièrement indiquée pour l'hydratation en  
10 profondeur de la peau.

Un aspect complémentaire de l'invention réside en une composition cosmétique qui comprend une quantité efficace d'une molécule selon l'invention pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou lutter contre son vieillissement.

15 Une telle composition peut comprendre une quantité efficace d'une molécule sélectionnée parmi le tréhalose, le rétinol, l'acide rétinoïque, et le lactose, ou une association desdites molécules pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou lutter contre son vieillissement et au moins une molécule selon l'invention.

20 Avantageusement, cette composition peut comprendre du tréhalose à une concentration qui se situe entre 1 et 20%, de préférence entre 5 et 15%. La molécule supplémentaire peut notamment être sélectionnée parmi la taurine, l'acide phytique, l'acide succinique, et l'acide citrique.

L'objectif d'associer deux molécules selon l'invention est de fournir une composition  
25 contenant une molécule permettant d'hydrater les fibres d'élastine et une deuxième molécule qui protège lesdites fibres contre les attaques de l'élastase. L'efficacité de la composition est alors renforcée, et la peau retrouve son élasticité et une apparence plus jeune.

30 La composition peut comporter en outre au moins une substance active en cosmétique choisie notamment parmi les anti-radicalaires dont la vitamine E, les sels minéraux,

les polymères négativement chargés dont l'ADN, les hydratants dont l'acide hyaluronique, le glycolate de guanidine et les céramides, les vitamines dont les vitamines C et E, les liposomes, les anti-inflammatoires, dont l'acide glycyrrhétinique, les acides gras essentiels (AGE) ou les huiles riches en AGE, les amincissants, les  
5 cicatrisants, et les protecteurs solaires.

De préférence, la composition cosmétique selon l'invention est un produit, tel qu'une crème, une lotion, un gel, destiné à être appliqué sur la peau.

Ainsi, l'invention se rapporte à l'utilisation d'une combinaison de molécules  
10 sélectionnées parmi le tréhalose, le rétinol et ses dérivés, l'acide rétinoïque et ses dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique et le hyaluronane digéré par la hyaluronidase, pour l'hydratation des fibres élastiques âgées et pour leur protection contre l'attaque des élastases.

15 Avantageusement, l'invention vise l'utilisation d'une composition cosmétique comprenant :

- du Rétinol (all-trans) palmitate à une concentration comprise entre 10 mg/ml et 100 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml,
- du tréhalose à une concentration comprise entre 5 mg/ml et 100 mg/ml, de  
20 préférence à 50 mg/ml,
- de la taurine, à une concentration comprise entre 5 et 100 mg/ml, de préférence à 50 mg/ml,
- de l'acide phytique, à une concentration entre 10 mg/ml et 200mg/ml, de préférence à 100 mg/ml,
- 25 - de l'acide malique, à une concentration comprise entre 1 et 200 mg/ml, de préférence à 100 mg/ml, et du hyaluronane digéré par la hyaluronidase à une concentration comprise entre 10 mg/ml et 500 mg/ml, de préférence à 200 mg/ml, ou de l'acide succinique entre 10 et 200 mg/ml, de préférence à 50 mg/ml,
- du tréhalose, à une concentration comprise entre 0,1 et 200 mg/ml, de préférence à  
30 10 mg/ml, et de l'acide phytique entre 1 et 200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml,

- du rétinol acetate (all trans.), à une concentration comprise entre 0,1 et 10 mg/ml, de préférence à 1 mg/ml, et du tréhalose entre 0,1 et 200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml,
  - ou de l'acide rétinoïque (all trans.), à une concentration comprise entre 1 et 1200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, et de la trioléine entre 1 et 500 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml,
- pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.

La composition explicitée ci-dessus peut comporter en outre de l'acide glycolique à des concentrations comprises entre 1 et 20 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, ou de l'acide lactique, entre 0,1 et 20 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml. Cette composition se trouve avantageusement sous la forme d'une crème.

Pour la suite de la description, on se référera aux légendes des figures présentées ci-après.

#### Légendes

- Figures 1A - 1D : Hydratation de l'élastine complexée avec les substances testées.
- Cette figure montre la variabilité de l'effet des différentes substances testées sur la rétention de l'eau par les complexes élastine-substance. Le tréhalose a un effet très positif sur l'hydratation des fibres alors que le  $\alpha$ -carragénane et l'acide mannuronique ont un effet négatif (données non présentées). La haute variabilité de ces effets sur l'hydratation de l'élastine indique clairement que l'augmentation de l'hydratation est la conséquence d'interaction spécifique entre les substances testées et l'élastine. De manière tout à fait surprenante, la capacité hydratante du tréhalose est du même ordre de grandeur que celle du hyaluronane hydrolysé ( 7,5 mg d'eau retenue par mg de tréhalose et 8,8 mg d'eau retenue par mg de hyaluronane hydrolysé fixé sur l'élastine.
- Figures 2A et 2B : Inhibition de l'élastolyse (contrôle et taurine).
- 2A - Le décalage de la courbe vers la gauche montre clairement que les fibres ont été sensiblement dégradées par l'élastase.

2B – Le décalage est moins important lorsque l'on rajoute de la taurine dans la solution contenant l'élastase. Ce composé protège les fibres.

**Figures 3A et 3B : Inhibition de l'élastolyse par les substances les plus efficaces**

5 Cette figure montre l'augmentation de la résistance à l'élastolyse par mg de substances fixées sur l'élastine. Très peu de substances parmi celles testées ont montré une capacité à augmenter la résistance de l'élastine aux attaques de l'élastase.

Le tréhalose a été le plus efficace, suivi par la taurine. Ces deux substances permettent d'augmenter d'environ 25 à 35% la résistance de l'élastine à l'élastolyse.

10 La plupart des autres substances augmentent la susceptibilité de l'élastine à être dégradée par l'élastase (données non fournies).

Il ressort clairement de ces figures que le tréhalose a une activité maximale pour des concentrations comprises entre 5 et 15%. On note que l'acide phytique et l'acide pyruvique donnent également de bons résultats.

15

**Figure 4 : Résistance des fibres aux attaques par l'élastase en fonction du temps.**

Cette figure illustre la propriété du tréhalose et de diverses substances à protéger durablement les fibres.

20 **Figures 5 et 6 : Photographie des fibres d'élastine séchées et hydratées.**

La différence de morphologie des fibres est illustrée dans ces photographies.

5- Fibres séchées.

6- Fibres hydratées.

25 **Figures 7-12 : Résultats des tests sur le diamètre des fibres et sur la diminution de l'élastolyse.**

La figure 7 donne les pourcentages de réhydratation de l'élastine obtenus avec les  $\alpha$ -hydroxy-acides, l'acide glycolique et l'acide lactique en comparaison avec des résultats de quelques substances précédemment testées: le tréhalose, l'acide phytique et

30 la taurine. La figure 8 montre la résistance à l'élastolyse obtenue notamment avec les  $\alpha$ -hydroxy-acides, l'acide glycolique et l'acide lactique.

La figure 9 montre la réhydratation de l'élastine obtenue avec le rétinol (all-trans) [vitamine A], l'acide rétinoïque (all-trans) [vitamine A acide], le palmitate de rétinol (all-trans) et l'acétate de rétinol (all-trans). La figure 10 montre l'effet de ces substances sur la résistance de l'élastine à l'élastolyse.

- 5 La figure 11 montre que le lactose augmente l'efficacité du rétinol (all-trans) ainsi que celle de l'acétate de rétinol (all-trans).

La figure 12 montre le même phénomène de potentialisation par le lactose de l'effet du rétinol, et de l'acétate de rétinol sur la protection de l'élastine contre l'élastolyse.

- 10 Exemple 1 : Procédé de criblage de molécules permettant d'hydrater les fibres d'élastine et d'augmenter la résistance des fibres d'élastine vis-à-vis de l'élastase. (test par analyse d'image).

#### Matériels et méthodes

- 15 Le but du test par analyse d'image a été double : d'une part, suivre l'hydratation de l'élastine fibreuse en complexe avec des substances à tester par rapport à l'hydratation de l'élastine seule; d'autre part, suivre l'élastolyse par l'élastase pancréatique des mélanges élastine fibreuse - substance X par rapport à l'élastolyse de l'élastine seule.
- 20 L'hydratation et l'élastolyse de l'élastine fibreuse ont été suivis à 37 °C, sous agitation et en présence de solution physiologique et de substances testées à la concentration indiquée. Certaines des substances testées sont listées au tableau I ci-dessous.

Protocole de l'examen de la largeur des fibres par analyse d'image :

- 25 - Peser le poids exact des tubes (PYREX).
- Mettre 50 mg élastine fibreuse/ tube + 2 ml de sérum physiologique.
- Ajouter 100 µl de substance X par tube (en concentration indiquée).
- Incubation des échantillons pendant 5 jours à 37 °C, sous agitation.
- Centrifugation à température ambiante, 2500 rpm, (r = 18 cm; 800 g), 10 minutes.
- On garde des culots (mixture élastine-X)

- Analyse d'images : mesure de la largeur des fibres d'élastine ( = largeur des fibres hydratées ; avant l'hydrolyse par l'élastase ; analyse en moyenne de 300 fibres).
- A la fin de cette série de mesure, on ajoute 2 ml de tampon d'élastase par tube  
5 (composition : Tris-HCl 100 mM, 0,01 % d'azide de sodium, pH 8,0).
- On ajoute également 100  $\mu$ l d'une solution d'élastase pancréatique de 10 U/ml/tube (=1 U/tube).
- Incubation 1 heure à 37 C° sous agitation.
- Centrifugation à 4 °C, 2500 rpm, (r =18 cm ; 800 g), 10 minutes.
- 10 - Mesure de la largeur des fibres hydrolysées.

On a analysé en moyenne 300 fibres par traitement. On met une goutte de l'échantillon entre une cellule Malassez et une lamelle et on observe les fibres d'élastine avec un agrandissement de 400 X. Pour chaque champ, la largeur précise de chaque fibre est  
15 mesurée. Les mesures sont réalisées réalisées par analyse d'image semi-automatique après étalonnage à l'aide d'une cellule de Malassez.

#### Résultats de la mesure du diamètre des fibres :

L'acide lactique utilisé à 5 à 10%, considéré comme un excellent produit hydratant de  
20 l'épiderme, est relativement peu efficace pour la réhydratation des fibres d'élastine. La réhydratation des fibres d'élastine reste en dessous de 20% par rapport au contrôle (fibres réhydratées dans une solution physiologique). L'acide glycolique à 5% est plus efficace avec environ 22% d'augmentation de réhydratation par rapport au témoin, un peu supérieur à ce que nous avons obtenu dans cette expérience avec le tréhalose  
25 (figure 7). Par contre, nous avons constaté relativement peu d'effet des  $\alpha$ -hydroxy-acides sur la protection contre l'élastolyse des fibres (figure 8). Par exemple, l'acide glycolique à 5% ne protège les fibres d'élastine contre l'élastolyse qu'à 25% par rapport au témoin. Quant au tréhalose, substance retenue pour son fort pouvoir de protection contre l'élastolyse dans les séries d'expérience précédentes, il protège à  
30 60%.

La deuxième série d'expériences a porté d'une part sur des dérivés de la vitamine A : le rétinol (all-trans) [vitamine A], l'acide rétinoïque (all-trans) [vitamine A acide], le palmitate de rétinol (all-trans) et l'acétate de rétinol (all-trans) ; (voir tableau I) et d'autre part sur différents dérivés lipidiques et phospholipidiques (phosphatidylcholine type X-E, phosphatidylcholine type IV-S, trioleine, 1,3-dilinoleine, trioleine et n-lauroylsarcosine). La figure 9 montre la réhydratation de l'élastine obtenue avec ces substances. Les lipides se sont montrés peu efficaces, comme on s'y attendait. Par contre, le rétinol et l'acide rétinoïque (la vitamine A et la vitamine A acide) ont augmenté de 12 à 15% l'hydratation des fibres par rapport au témoin. La figure 10 montre l'effet de ces substances sur la résistance de l'élastine à l'élastolyse. La trioleine (huile d'olive) et l'all-trans rétinol ont conféré une plus grande résistance à l'élastolyse. Les autres substances testées ont été moins efficaces. Enfin, dans la dernière série d'expérience, nous avons testé l'effet conjoint des dérivés de la vitamine A avec le lactose. Le lactose est un antagoniste du récepteur de l'élastine-laminine, testé dans nos expériences précédentes avec le mélibiose en tant que modulateurs des effets médiés par ce récepteur. La réaction du lactose avec le récepteur de l'élastine-laminine (ou elastin binding protein, EBP) a été décrite dans la littérature avant la mise en évidence par nos méthodes de l'efficacité du mélibiose. Le lactose augmente l'efficacité du rétinol (all-trans) ainsi que celle de l'acétate de rétinol (all-trans). Le lactose seul est peu efficace (figure 11). Le même phénomène de potentialisation par le lactose de l'effet du rétinol, et de l'acétate de rétinol sur la protection de l'élastine contre l'élastolyse a été observé (figure 12).

Plusieurs des substances testées dans ces dernières séries d'expériences ont présenté des propriétés intéressantes. Certains acides organiques, comme l'acide glycolique, le trioleine et des dérivés de la vitamine A possèdent des propriétés intéressantes : l'augmentation de la réhydratation de l'élastine et de la résistance contre l'élastolyse. La synergie trouvée entre le lactose et les différents dérivés du rétinol est particulièrement intéressante. Elle montre que la combinaison de ces substances possède une efficacité remarquable pour hydrater les fibres d'élastine et pour augmenter leur résistance à l'élastolyse. Il convient d'insister sur le fait qu'il s'agit ici

d'effets de nature purement physico-chimiques et non pas physiologiques puisqu'il n'y a pas de cellule vivante dans le protocole expérimental utilisé. Ces effets sont totalement indépendants et distincts des effets décrits pour le rétinol et ses dérivés qui nécessitent la présence de cellules vivantes possédant dans leur noyau le récepteur de l'acide rétinoïque. Il faut remarquer que cette démonstration de la présence et de l'efficacité de l'acide rétinoïque n'a pas été confirmée au cours du vieillissement dans le derme et de l'épiderme. Les effets que nous observons sont totalement indépendants, car basés sur les interactions moléculaires directes entre les substances testées et les fibres d'élastine sans faire appel au récepteur de l'élastine.

10

**Tableau I :** Substances testées pour l'hydratation de l'élastine et pour la résistance à l'élastolyse.

<i>TRAITEMENT</i>	<i>CONCENTRATION TESTEE</i>
ACIDE GLYCOLIQUE	1%
	5%
	10%
ACIDE LACTIQUE	1%
	5%
	10%
All-trans acide rétinoïque (VITAMINE A ACIDE)	1%
All-trans rétinol (VITAMINE A)	1%
All-trans rétinol palmitate	1%
All-trans rétinol acétate	1%
Phosphatidylcholine type X-E	1%
Phosphatidylcholine type IV-S	1%
Trioléine (C18 :1,-cis-9)	1%
1,3-dilinéoléine (C18 :2 ; (cis)-9,12)	1%



Trilinoléine (C18 :2, -cis, -cis-9,12)	1%
N-lauroylsarcosine	1%
Lactose	1%
Lactose + all-trans rétinol (VITAMINE A)	1% + 1%
Lactose + all-trans acide rétinoïque (VITAMINE A ACIDE)	1% + 1%
Lactose + all-trans acide rétinol acétate	1% + 1%

Exemple 2 : Procédé de criblage de molécules permettant d'hydrater les fibres d'élastine (test d'hydratation)

Protocole : 100 mg de fibres d'élastine sont ajoutés dans plusieurs tubes (préalablement pesés). Des tubes sont placés dans un four à 100°C toute la nuit. Le poids des échantillons d'élastine ainsi séché est calculé. Les échantillons contenant l'élastine sont ensuite mélangés avec 20 mg de la substance testée dans 2 ml de solution saline physiologique (0,9 % NaCl), et le mélange est incubé pendant trois à cinq jours à 37°C avec une agitation constante. Les échantillons sont centrifugés à température ambiante à 500g pendant dix minutes. Les sédiments, après complète décantation, sont à nouveau pesés afin d'obtenir le poids de la réhydratation des complexes élastine-substances testées. Ces échantillons sont à nouveau séchés à 100° toute la nuit et sont à nouveau pesés. La différence en poids conduit à des ratio [élastine - substances / élastine] et [élastine - substances (hydratées) / élastine - substances (séchées)].

La quantité d'eau retenue par les fibres d'élastine pures séchées (contrôle) et par le complexe élastine-substance a été calculée. Les résultats en ce qui concerne le tréhalose, l'acide phytique, la taurine et les autres substances sont présentés aux figures 1A à 2B.

Parmi les substances plus efficaces on peut notamment citer le tréhalose. Les figures 4 à 6 illustrent la capacité d'hydratation des substances testées en fonction du temps, ainsi que le changement de morphologie des fibres dû à l'hydratation.

Exemple 3 : Procédé de criblage de molécules permettant d'augmenter la résistance des fibres d'élastine vis-à-vis de l'élastase.

Protocole : Environ 100 mg d'élastine ou du complexe élastine-substances sont ajoutés dans des tubes contenant 3ml de tampon Tris pH 8,6, et les échantillons sont incubés  
5 24 heures à 37°C avec une agitation constante. 30 unités d'élastase pancréatique sont ajoutées dans chaque tube et le contenu est vigoureusement agité. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pour permettre à l'enzyme d'agir. La réaction est stoppée en refroidissant les tubes dans un bain de glace après 0 minute, une heure et 24 heures. Les tubes sont ensuite centrifugés à 1200g pendant 20 minutes à 4°C. Des échantillons  
10 de 150 microlitres sont pris soit pour la détermination de la production de fragments peptidiques par la procédure de Lowry, soit par la lecture de la densité optique à 280 nanomètres dans un spectrophotomètre à UV. L'élastolyse est calculée à partir de la quantité de fragments peptidiques obtenus par unité d'enzyme dans un intervalle de temps donné.

15 Des échantillons d'élastine ont été purifiés comme indiqué précédemment, traités ou non traités, et ont été suspendus dans un tampon Tris HCl à pH 8,6. L'élastase a ensuite été rajoutée, et l'élastolyse a été suivie en déterminant les produits de dégradation de l'élastine dans le surnageant soit par la procédure de Lowry, soit par lecture de la  
20 densité optique desdits surnageants à 280 nm. La liste des substances qui ont été testées est présentée aux figures 3A et 3B. Certains composés de haut poids moléculaire ont subi un traitement par méthanolyse afin de faciliter leur pénétration dans la peau. La plupart des substances testées sont des carbohydrates et d'autres, telles que la mélatonine ou la taurine, sont des substances biologiquement actives. Quelques  
25 alcools aliphatiques ont également été testés car ils sont connus pour leur interaction avec l'élastine (17, 27, 28). Les chaînes aliphatiques de ces alcools peuvent interagir avec les régions hydrophobes de l'élastine, et le groupe hydroxyle peut former des liaisons hydrogènes avec l'eau. Les autres substances testées ont été choisies en fonction de leur capacité à interagir avec l'eau (présence de groupes polaires). Le  
30 hyaluronane, le tréhalose, et la mélatonine font partie des composés qui possèdent le plus d'affinité pour l'élastine. Le tréhalose s'avère être un bon candidat pour améliorer l'élasticité de la peau car il possède à la fois la propriété d'hydratation et de protection des fibres.

Exemple 4 : Compositions envisageables selon l'invention.

- Tréhalose (5 à 15 %)
- 5 - Taurine (5 à 10 %)
- Acide Phytique (1 %)
- Acide Succinique (5%)

## REFERENCES

- 1) COMPER W.D., Extracellular matrix, 1996, 1-2: (Harwood Academic Publishers, Australia)
- 5
- 2) ROBERT L. and LABAT-ROBERT J., Morphogenesis, aging and repair of connective tissues., *Facial Plastic Surgery*, 1989, 6: 1-7.
- 3) L. ROBERT, B. ROBERT., Aging of connective tissues, skin, Eds *Frontiers of*  
10 *Matrix Biology*, 1973, 1: (Karger, Basel).
- 4) ROBERT L. and HORNEBECK W., Elastin and elastases, *CRC Press*, 1989, I et II: (CRC Press Inc. Boca Raton, Fla.).
- 15 5) ROBERT L., CHADWICK D , The molecular biology and pathology of elastic tissues, eds., 1995 (John Wiley & Sons, Chichester).
- 6) ROBERT B., SZIGETI M., DEROUETTE J.C., ROBERT L., BOUISSOU H. and FABRE M.T., Studies on the nature of the "microfibrillar" component of elastic fibers,  
20 *Eur. J. Biochem.*, 1971, 21: 507-516.
- 7) GODEAU G., GONNORD G., JOLIVET O., SCHOEVAERT D., POMPIDOU A., LAGRUE G. and ROBERT A.M., A selective histochemical method for the quantitative estimation of elastic fibers by computerized morphometric analysis. Effect  
25 of Colchicin treatment, *Anal. Quant. Cytol. Histol.*, 1986, 8: 321-325.
- 8) GODEAU G. and ROBERT A.M., Use of pycnogenols in the histological staining of elastic fibers and their quantification in several tissues by automated image analysis. In : "*Elastin and elastases*" L. Robert and W. Hornebeck Eds., 1989, I: pp.  
30 7-19 (CRC Press, Boca Raton).

- 9) VOROS E., ROBERT C., GODEAU G. and ROBERT A.M., Morphometric study of the evolution of the skin surface relief with age, *Acta. Stereol.*, 1989, 8: 379-380.
- 10) ROBERT C., LESTY C. and ROBERT A.M., Aging of the skin: study of elastic fiber network. modifications by computerized image analysis, *Gerontol.*, 1988, 34: 291-296.
- 11) FRANCES C., BRANCHET M.C., BOISNIC S., LESTY C. and ROBERT L., Elastic fibers in normal human skin. Variations with age: a morphometric analysis. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 1990, 10: 57-67.
- 12) HOLZENBERGER M., LEVIINZI S.A., HERZOG C.P., DEAK S.B., ROBERT L. and BOYD C.D., Quantitation of tropoelastin messenger RNA and assessment of alternative splicing in human skin fibroblasts by reverse transcriptase polymerase chain reaction, *PCR- Methods and Applications*, 1993, 3: 2, 107-114.
- 13) ROBERT L., CHAUDIERE J. and JACOTOT B., Interaction between lipids and the intercellular matrix of the arterial wall: its role in the evolution of atherosclerotic lesions, In: «*Regression of atherosclerosis lesions. Experimental studies and observations in humans*» Malinow M.R., V.H. Blaton Eds., 1984, 79: pp. 145-173 (NATO SI series, Life Sciences, Plenum Press, London).
- 14) ROBERT L., JACOB M.P. and HORNEBECK W., Interactions between lipids, lipoproteins and extracellular matrix macromolecules with special reference to elastin, In: «*Atherosclerosis VII*», Fidge N.H. and Nestel P.J. Eds., 1986, pp. 439-442 (Elsevier Science Publ.).
- 15) ROBERT L. and JACOB M.P., Interactions between lipids and elastin, In: «*Elastin and Elastases*» Robert L. and Hornebeck W., Eds., 1989, I: pp. 257-286 (CRC Press, Boca Raton).

- 16) URRY D.W., LUAN C.C., PENG S.Q., Molecular biophysics of elastin structure, function and pathology, In: «*The molecular biology and pathology of elastic tissues* » L. Robert, D. Chadwick Eds., 1995 (4-22 aohn Wiley & Sons).
- 5 17) ROBERT A.M., ROBERT L., Biology and pathology of elastic tissues,. Eds., *Frontiers of matrix Biology*, 1980, 8: (Karger, Basel).
- 18) PARTRIDGE S.M., Elastin, in: «*Advances in protein chemistry* » Anfinsen C.B., Bailey K., Anson M.L., Edsall J.T., Eds., 1962, 17: 227-302 (Academic Press, New  
10 York).
- 19) ROBERT L., Structural glycoproteins: Historical remarks, In: "*Frontiers of Matrix Biology*", J. Labat-Robert, R. Timpl and L. Robert Eds., 1986, 11: 1-16 (Karger, Basel).
- 15 20) MOCZAR M. and ROBERT L., Interaction of proteodermatan sulphate with elastin, *Biochem. Soc. Trans.*, 1987, 15: 1078-1079.
- 21) LAURENT T.C., Structure of hyaluronic acid, in: «*Chemistry and molecular  
20 biology of the intercellular matrix* » Balazs E.A., Ed., 1970, 2: 703-732 (Academic Press, London).
- 22) MOULABBI M., BROCH H., ROBERT L. and VASILESCU D., Quantum molecular modeling of hyaluronan, *Journal of Molecular Structure, (Theochem)*  
25 395-396, 1997, 477 -508.
- 23) SCOTT J.E., Secondary structures in hyaluronan solutions: chemical and biological implications, In: «*The biology of hyaluronan* » Laurent T.C., Chadwick D. Eds., 1989, 6-20 John Wiley & Sons, Chichester).

- 24) LABAT-ROBERT J., KERN P. and ROBERT L., Biomarkers of connective tissue aging: biosynthesis of fibronectin, collagen type III and elastase, *Ann. New York Acad. Sci.*, 1992, 673: 16-22.
- 5 25) HOMSY R., PELLETIER-LEBON P., TIXIER J.M., GODEAU G., ROBERT L. and HORNEBECK W., Characterization of human skin fibroblasts elastase activity, , *J. Invest. Dermatol.*, 1988, 91: 472-477.
- 10 26) FULOP T., WEI S.M., ROBERT L. and JACOB M.P., Determination of elastin peptides in normal and arteriosclerotic human sera by ELISA, *Clin. Physiol. Biochem.*, 1990, 8: 273-282.
- 15 27) BIZBIZ L., ALPEROVITCH A., ROBERT L. and the EVA group, Aging of the vascular wall: serum concentration of elastin peptides and elastase inhibitors in relation with cardiovascular risk factor. The EVA study, *Atherosclerosis*, 1997, 131: 73-78.

### REVENDEICATIONS

1. Procédé de criblage de molécules susceptibles d'améliorer l'élasticité de la peau  
5 caractérisé en ce qu'il comporte les étapes suivantes :
  - a) On fait interagir une ou plusieurs molécule(s) sur des fibres d'élastine purifiées,
  - b) on détermine leur effet sur l'hydratation et/ou sur la résistance des fibres vis-à-vis de l'élastase,
  - c) on sélectionne une ou plusieurs molécule(s) présentant un effet positif sur  
10 l'hydratation et/ou sur la résistance des fibres.
2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que l'étape b) consiste en un pesage du complexe fibre-molécule-eau retenu et du complexe témoin fibre-eau, en la détermination de la quantité de produits de dégradation par l'action de l'élastase des  
15 fibres présents dans le surnageant, et/ou en une mesure du diamètre des fibres traitées comparé à celui des fibres non traitées.
3. Procédé selon la revendication 1 permettant l'identification de molécules capables d'hydrater les fibres d'élastine caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :
  - 20 a) Purification, séchage des fibres d'élastine à haute température, et refroidissement en dessiccateur,
  - b) addition aux fibres obtenues à l'étape a) d'une ou plusieurs molécule(s) dans une solution aqueuse,
  - c) élimination de la solution en excès par centrifugation, et pesage du complexe fibre-  
25 molécule-eau retenue,
  - d) sélection d'une ou plusieurs molécule(s) qui favorisent la rétention d'eau par les fibres.
4. Procédé selon la revendication 3 caractérisé en ce que les molécules sont polaire(s)  
30 et de faible poids moléculaire.



5. Procédé selon la revendication 1 permettant l'identification de molécules capables de protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- a) Mise en contact des fibres d'élastine purifiées avec une ou plusieurs molécule(s) de faible poids moléculaire dans une solution aqueuse contenant de l'élastase,
- b) centrifugation et détermination de la quantité de produits de dégradation des fibres présents dans le surnageant par mesure colorimétrique et/ou par lecture de la densité optique,
- c) sélection d'une ou plusieurs molécule(s) qui protègent les fibres contre la dégradation par l'élastase.

6. Procédé de criblage de molécules capables à la fois d'hydrater les fibres d'élastine et de protéger lesdites fibres contre l'action de l'élastase caractérisé en ce qu'on met en œuvre en parallèle ou en série les procédés selon les revendications 3 et 5.

15

7. Utilisation d'une molécule ou d'une combinaison de molécules sélectionnées parmi le tréhalose, le rétinol et ses dérivés, l'acide rétinoïque et des dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique et le hyaluronane digéré par la hyaluronidase, pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger lesdites fibres contre l'action de l'élastase.

20

8. Utilisation d'une combinaison de molécules sélectionnées parmi le tréhalose, le rétinol et ses dérivés, l'acide rétinoïque et ses dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique et le hyaluronane digéré par la hyaluronidase, pour l'hydratation des fibres élastiques âgées et pour leur protection contre l'attaque des élastases.

25

9. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant du Rétinol (all-trans) palmitate à une concentration comprise entre 10 mg/ml et 100 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.

30

10. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant du tréhalose à une concentration comprise entre 5 mg/ml et 100 mg/ml, de préférence à 50 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 5
11. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant de la taurine, à une concentration comprise entre 5 et 100 mg/ml, de préférence à 50 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 10
12. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant de l'acide phytique, à une concentration entre 10 mg/ml et 200mg/ml, de préférence à 100 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 15
13. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant l'acide malique, à une concentration comprise entre 1 et 200 mg/ml, de préférence à 100 mg/ml, et du hyaluronane digéré par la hyaluronidase à une concentration comprise entre 10 mg/ml et 500 mg/ml, de préférence à 200 mg/ml, ou de l'acide succinique entre 10 et 200 mg/ml, de préférence à 50 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 20
14. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant du tréhalose, à une concentration comprise entre 0,1 et 200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, et de l'acide phytique entre 1 et 200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 25
15. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant du rétinol acetate (all trans.), à une concentration comprise entre 0,1 et 10 mg/ml, de préférence à 1 mg/ml, et du tréhalose entre 0,1 et 200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.
- 30

16. Utilisation d'une composition cosmétique comprenant de l'acide rétinoïque (all trans.), à une concentration comprise entre 1 et 1200 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, et de la trioléine entre 1 et 500 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, pour augmenter l'hydratation de l'élastine ainsi que sa résistance à l'élastolyse.

5

17. Utilisation selon l'une des revendications 9 à 16 caractérisée en ce que la composition comporte en outre de l'acide glycolique à des concentrations comprises entre 1 et 20 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml, ou de l'acide lactique, entre 0,1 et 20 mg/ml, de préférence à 10 mg/ml.

10

18. Utilisation selon l'une des revendications 9 à 17 caractérisée en ce que la composition se trouve sous la forme d'une crème.

1 / 10

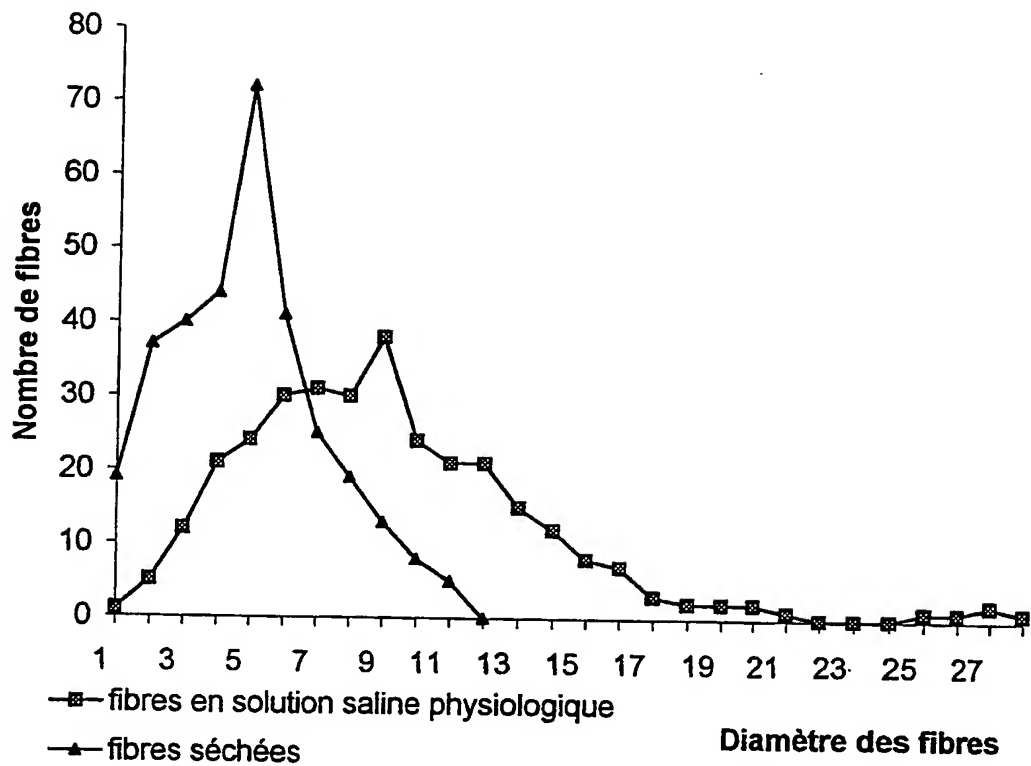


FIGURE 1A

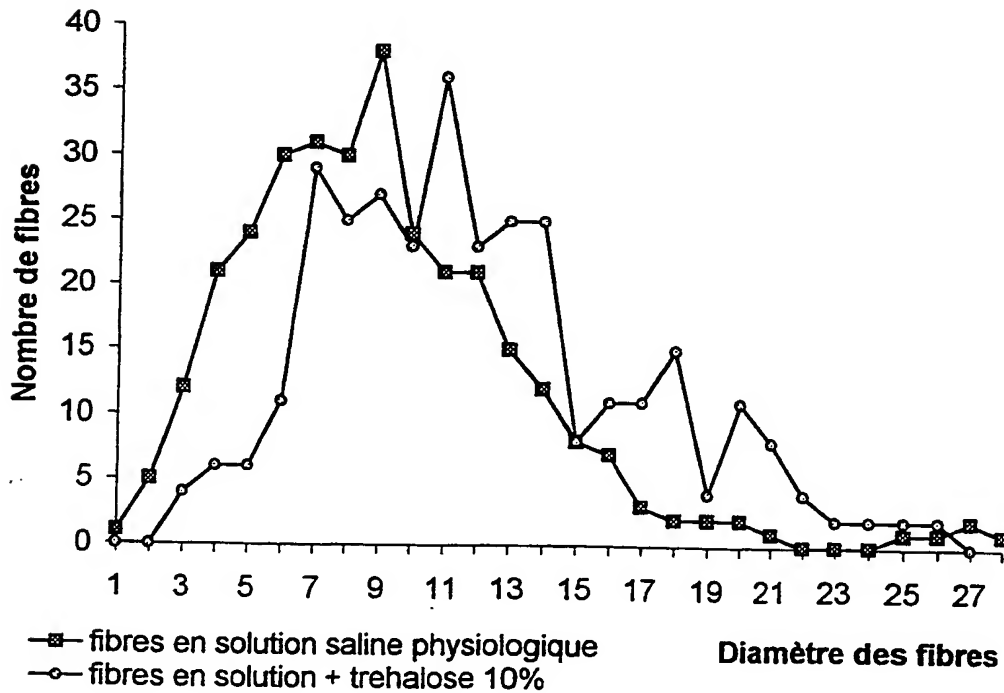


FIGURE 1B

2 / 10

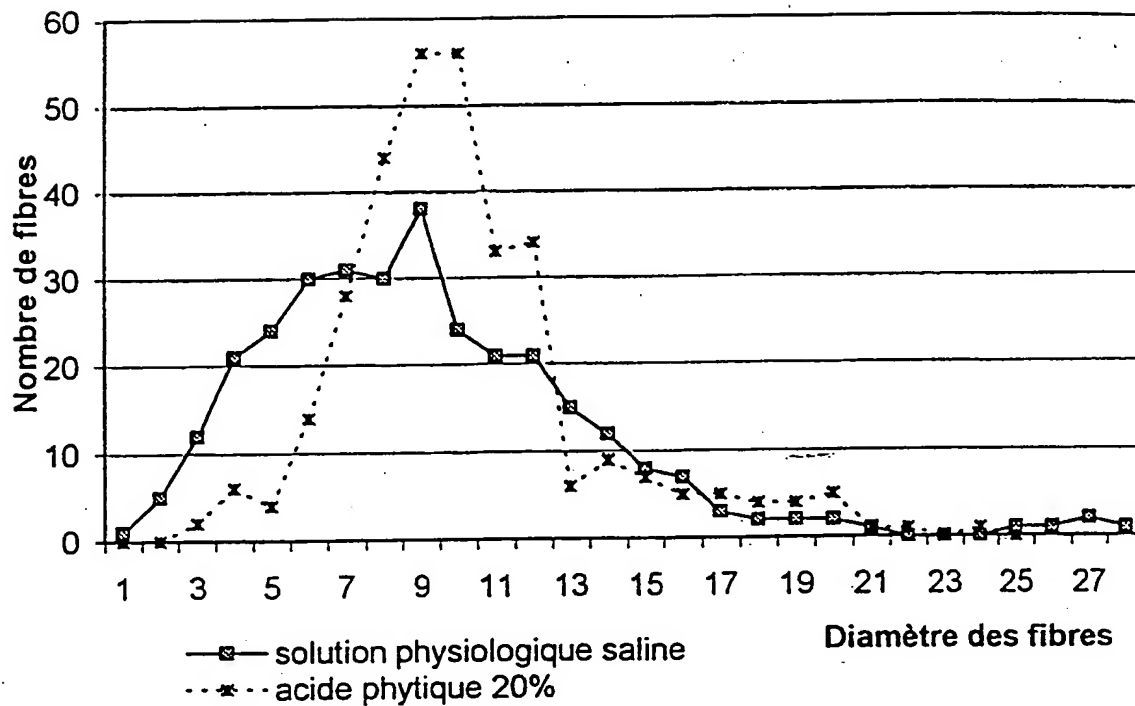


FIGURE 1C

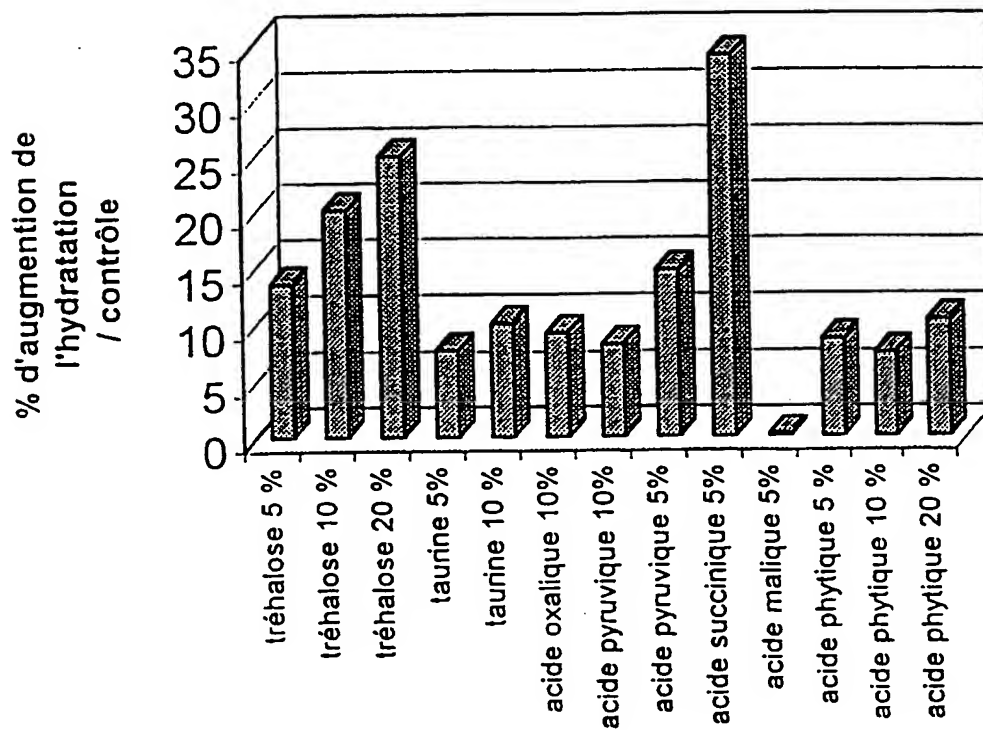


FIGURE 1D

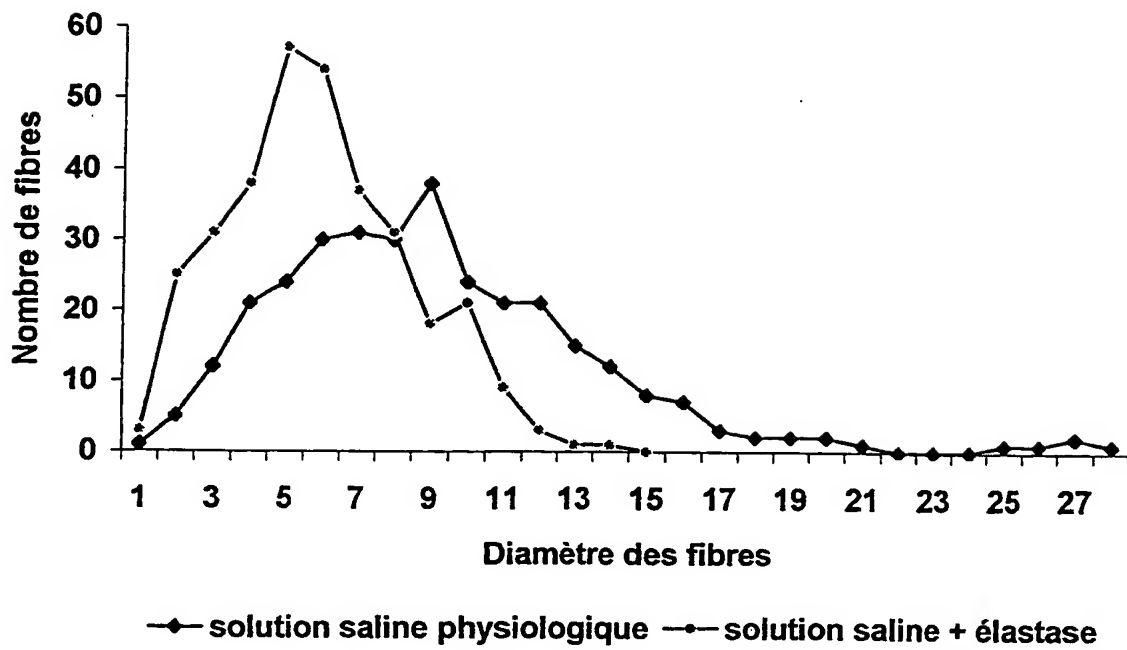


FIGURE 2A

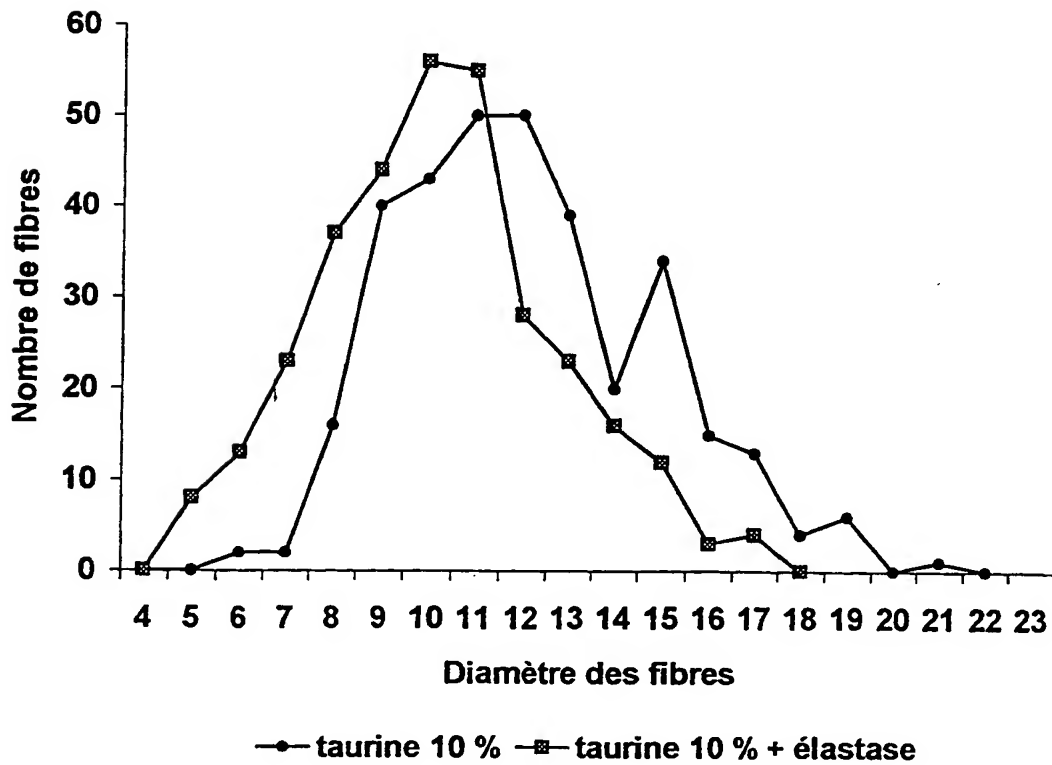


FIGURE 2B

4 / 10

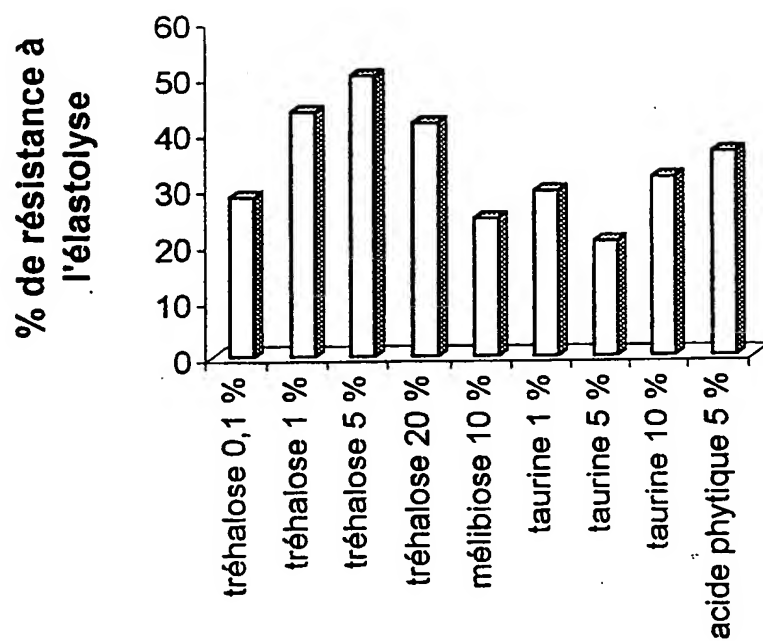


FIGURE 3A

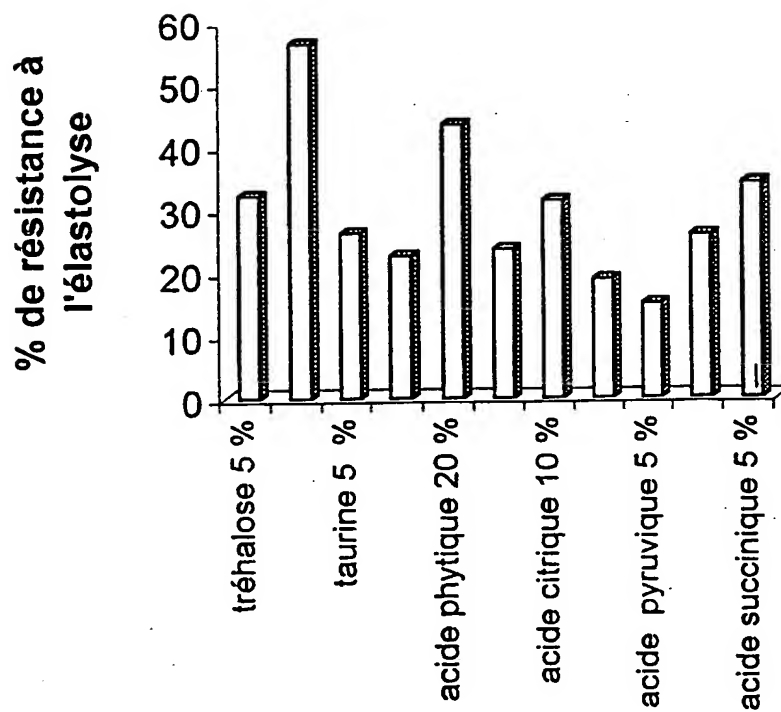


FIGURE 3B

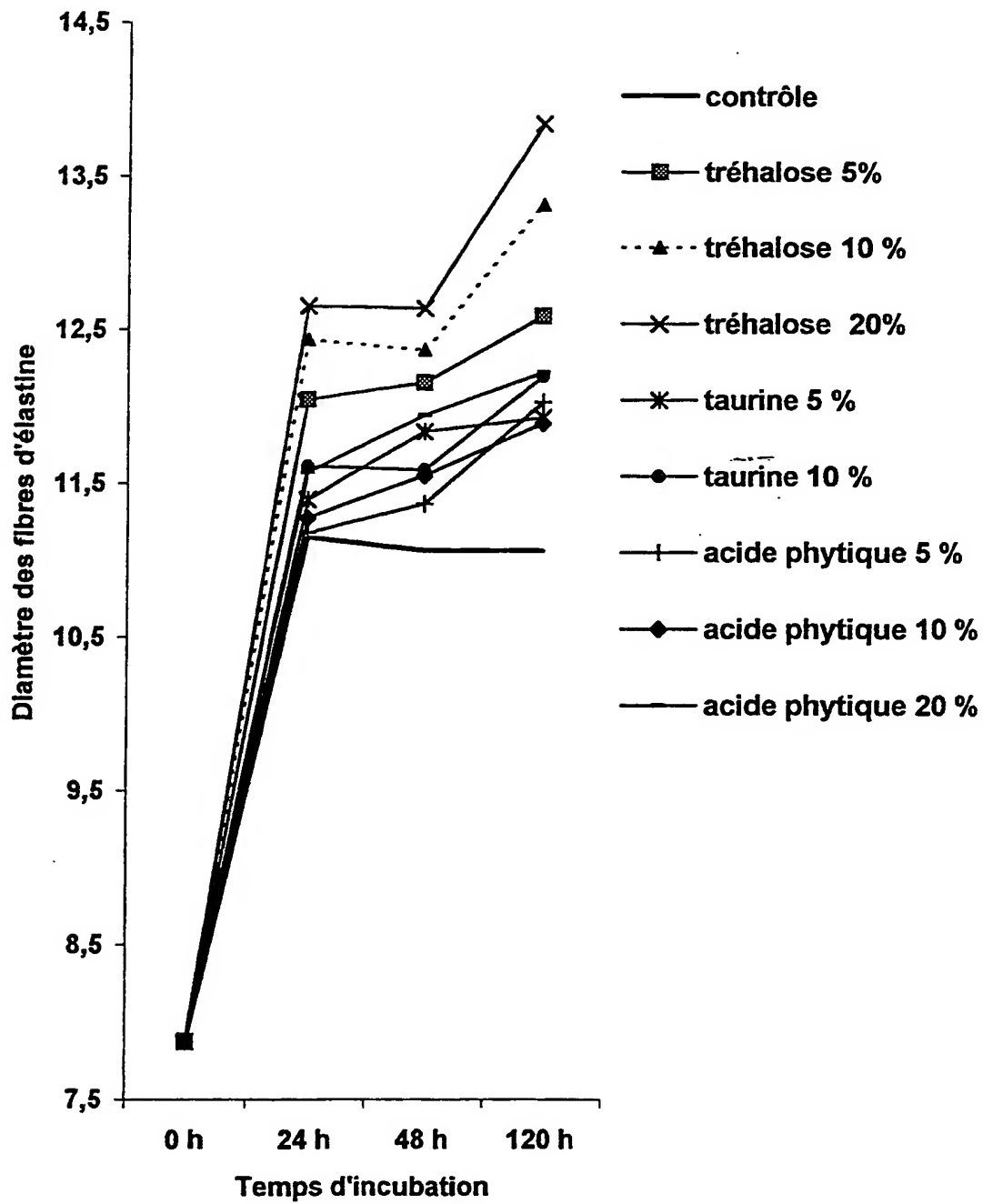


FIGURE 4



6 / 10

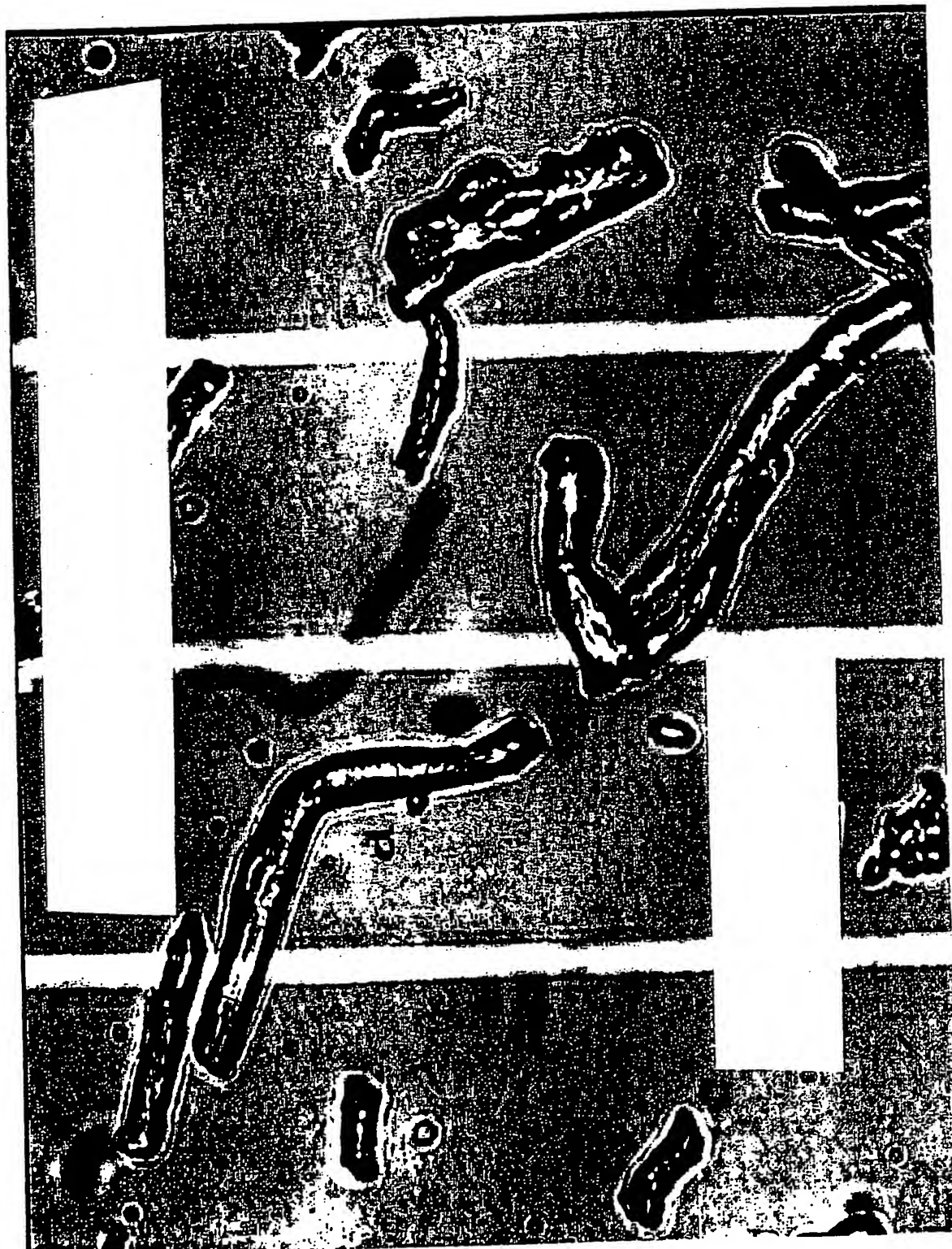


FIGURE 5

7 / 10

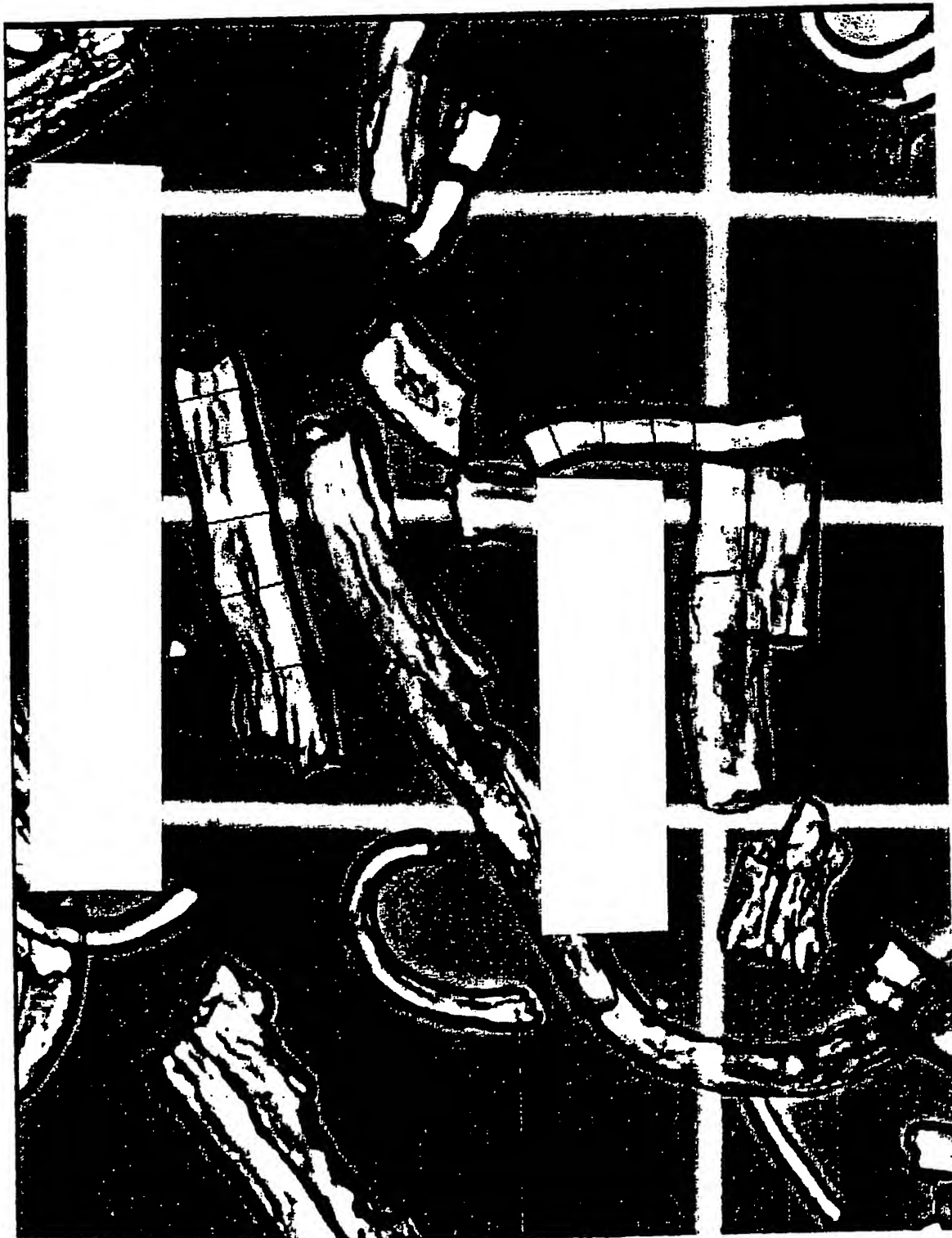


FIGURE 6

FIGURE 7

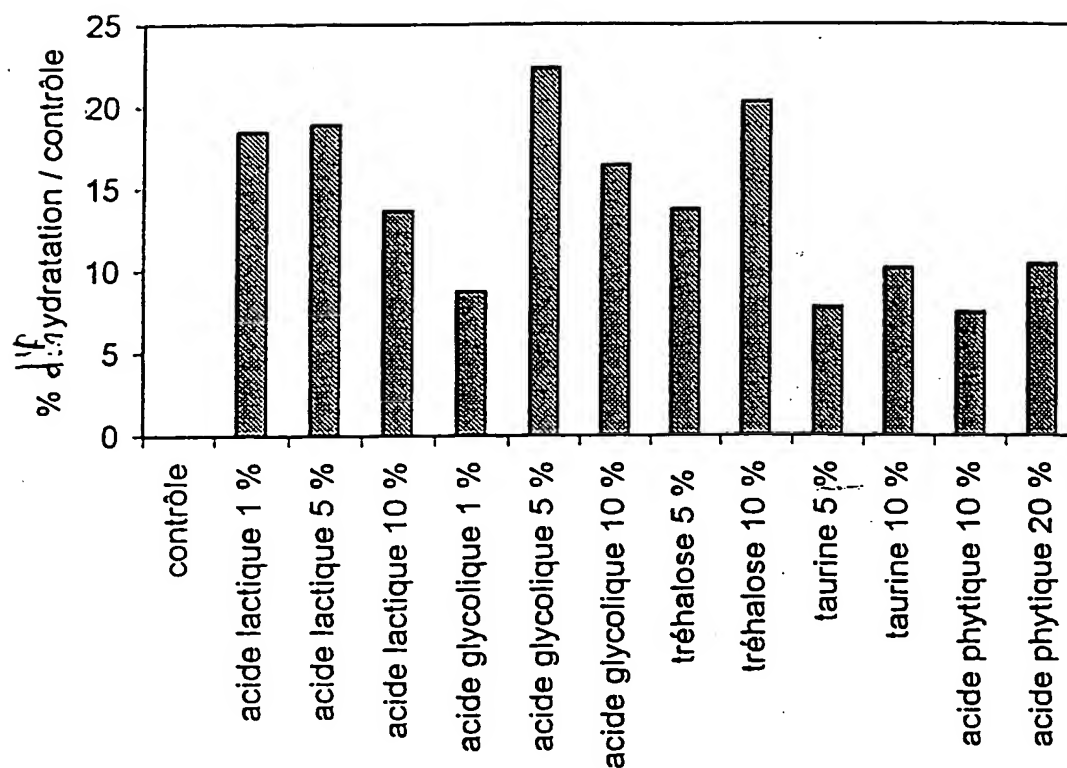
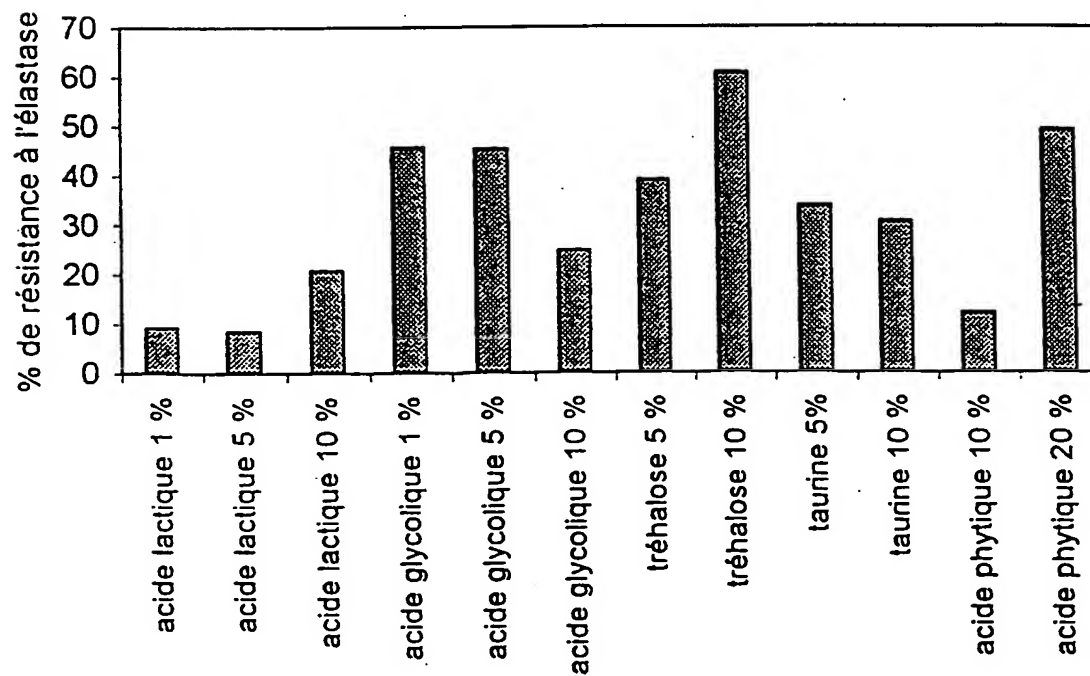


FIGURE 8



9 / 10

FIGURE 9

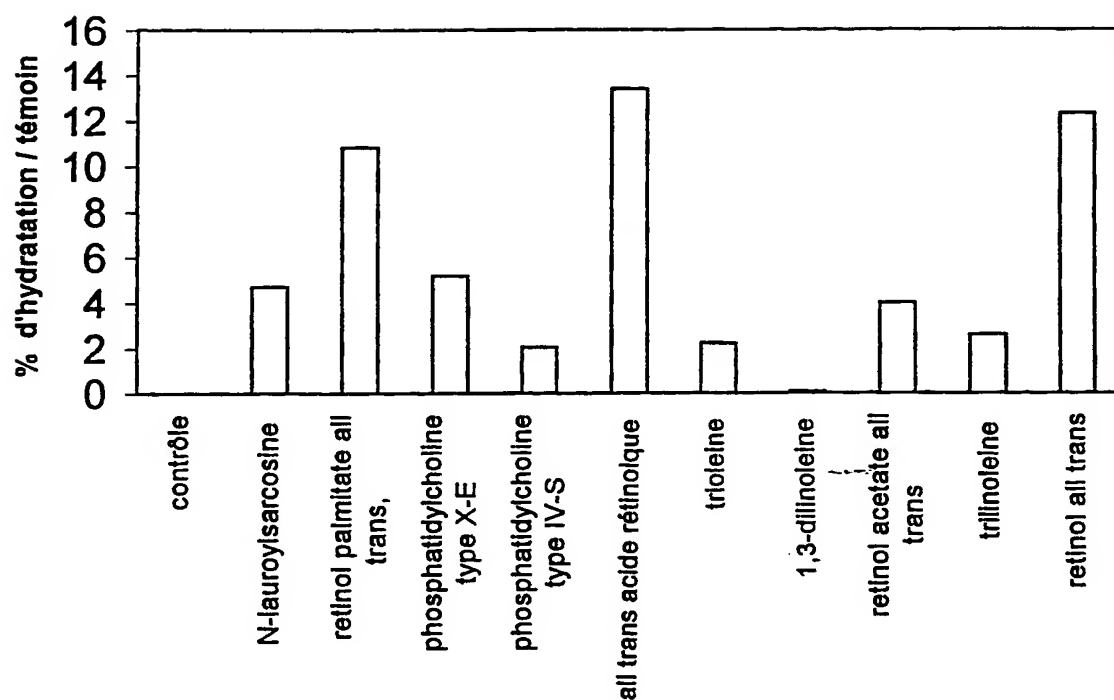
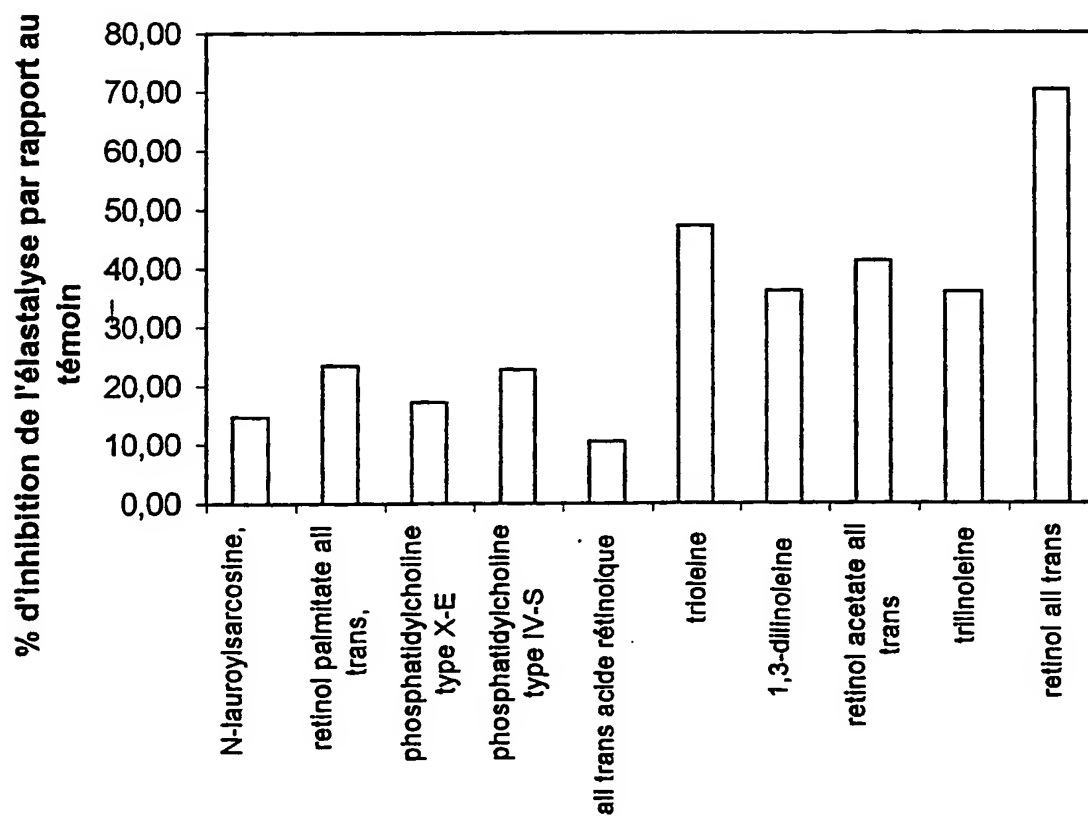


FIGURE 10



10 / 10

FIGURE 11

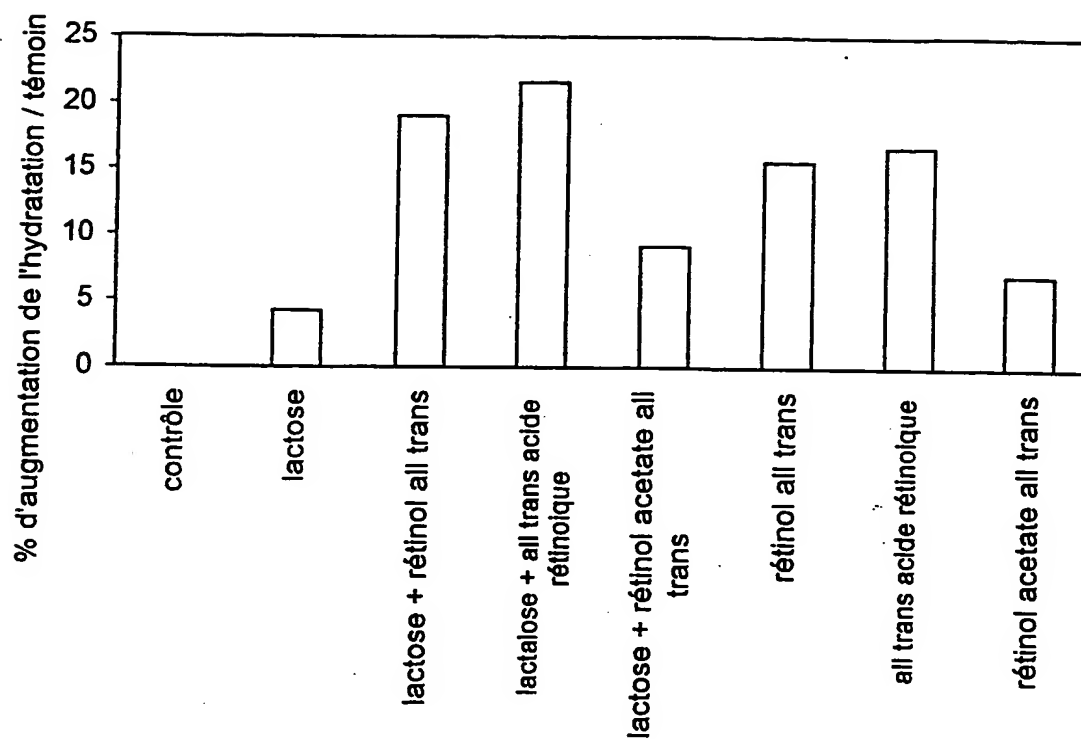
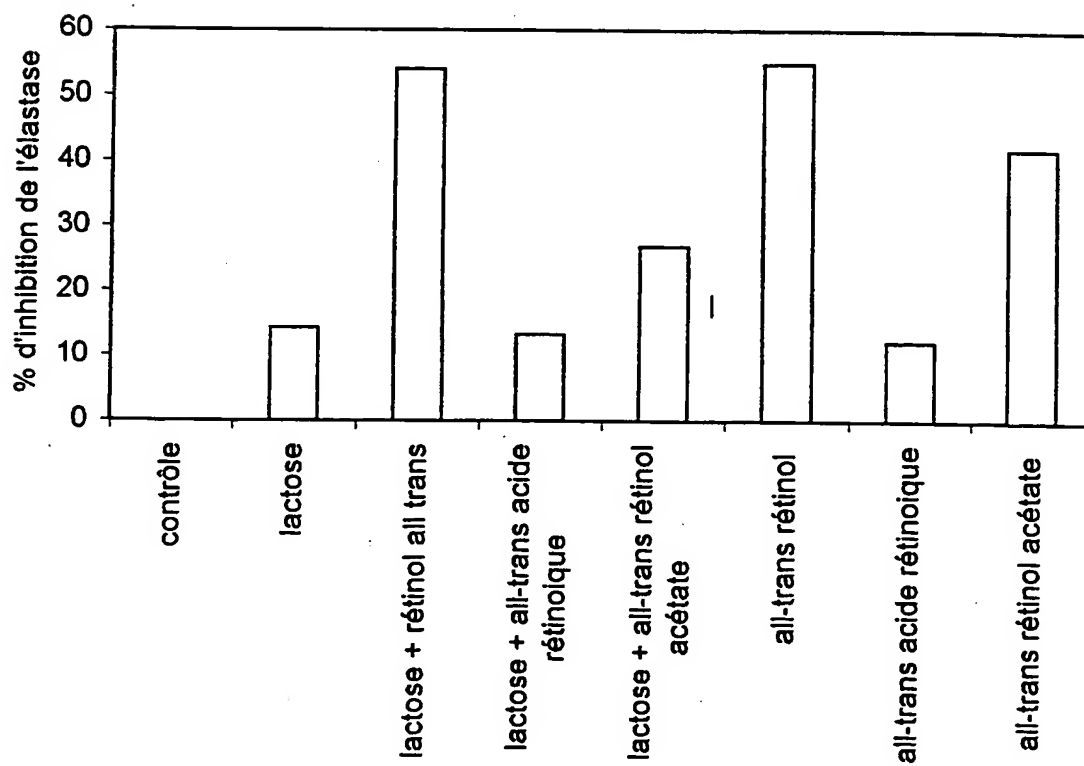


FIGURE 12





|

|

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
11 janvier 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 01/01948 A3**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : A61K 7/48,  
7/00

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR00/01925

(22) Date de dépôt international : 5 juillet 2000 (05.07.2000)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
99/08700 6 juillet 1999 (06.07.1999) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : IN-  
STITUT D'EVALUATION DERMATOPHYSIQUE  
[FR/FR]; 42, rue Monge, F-75005 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : ROBERT,  
Ladislav [FR/FR]; 7, rue Jean-Baptiste Lully, F-94440  
Santeny (FR). ROBERT, Alexandre-Michel [FR/FR]; 41,  
rue François Couperin, F-94440 Santeny (FR).

(74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet  
Regimbeau, 20 rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17  
(FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,  
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,  
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen  
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,  
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,  
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(88) Date de publication du rapport de recherche  
internationale: 8 novembre 2001

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: COSMETIC COMPOSITION FOR MOISTURIZING AND PROTECTING ELASTINE FIBERS

(54) Titre : COMPOSITION COSMETIQUE POUR L'HYDRATATION ET LA PROTECTION DES FIBRES D'ELASTINES

(57) Abstract: The invention relates to a novel cosmetic approach consisting in the formation of a complex between elastine fibers and substances which are able to moisturize and/or increase the resistance of said fibers with respect to elastase-degradation. The aim of the invention is to provide a composition containing compounds such as trehalose in order to improve the elasticity of the skin and/or prevent aging.

(57) Abrégé : La présente invention concerne une nouvelle approche cosmétique qui consiste en la formation d'un complexe entre les fibres d'élastine et des substances capables d'hydrater et/ou d'augmenter la résistance desdites fibres à la dégradation par l'élastase. L'objectif est de fournir une composition comprenant des composés, tels que le tréhalose, pour améliorer l'élasticité de la peau et/ou prévenir son vieillissement.



WO 01/01948 A3

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC 00/01925

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61K7/48 A61K7/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE WPI Week 9729 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-316455 XP002134813 &amp; JP 09 124453 A (JAPAN HAPPY KK) abstract</p>	7,10,18
X	<p>--- EP 0 180 559 A (ORENTREICH) 7 May 1986 (1986-05-07) cited in the application the whole document</p>	7,10,18
X	<p>--- US 4 839 164 A (SMITH) 13 June 1989 (1989-06-13) cited in the application the whole document</p> <p>--- -/--</p>	7,10,18

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 January 2001

Date of mailing of the international search report

03 APR 2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

FISCHER, J



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 97/01925

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1997, no. 07 (C & JP 09 077650 A (AJINOMOTO CO) cited in the application abstract ---	7,10,18
A	FR 2 760 365 A (ROC) 11 September 1998 (1998-09-11) the whole document ---	1-7,10, 18
A	FR 2 762 783 A (ROC) 6 November 1998 (1998-11-06) the whole document ---	1-7,10, 18
A	WO 95 05155 A (ROBERT ET AL.) 23 February 1995 (1995-02-23) the whole document ---	1-7,10, 18
A	FR 2 269 327 A (HENKEL) 28 November 1975 (1975-11-28) the whole document ---	1-6
A	WO 96 19099 A (LVMH RECHERCHE) 27 June 1996 (1996-06-27) the whole document -----	1-6

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01925

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
1-6, 7 (in part), 10, 18 (in part)

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

1. Claims nos. 1-6, 7 (in part), 10, 18 (in part)

1. Yes : method for targeting molecules which may improve the elasticity of the skin and use of a trehalose molecule alone to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

2. Claims nos. 7-8, 14, 17-18

2. No : use of a trehalose molecule combined with molecules selected from retinol and the derivatives thereof, retinoic acid and the derivatives thereof, taurine, lactic acid, glycolic acid, phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

3. Claims nos. 7-9, 15, 17-18

3. No : use of a retinol molecule and the derivatives thereof alone or combined with molecules selected from retinoic acid and the derivatives thereof, taurine, lactic acid, glycolic acid, phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

4. Claims nos. 7-8, 16-18

No : use of a retinoic acid molecule and the derivatives thereof alone or combined with molecules selected from taurine, lactic acid, glycolic acid, phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

5. Claims nos. 7-8, 11, 17-18

5. No : use of a taurine molecule alone or combined with molecules selected from lactic acid, glycolic acid, phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

6. Claims nos. 7-8, 17-18

6. No : use of a lactic acid molecule alone or combined with molecules selected from glycolic acid, phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase

and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

7. Claims nos. 7-8, 17-18

7.No : use of glycolic acid molecule alone or combined with molecules selected from phytic acid, malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

8. Claims nos. 7-8, 13, 18

8.No : use of a phytic acid molecule alone or combined with molecules selected from malic acid, hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

9. Claims nos. 7-8, 13, 18

9.No : use of a malic acid molecule alone or combined with a molecule of hyaluronane digested by hyaluronidase to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

10. Claims nos. 7-8, 18

10.No : use of a molecule of hyaluronane digested by hyaluronidase alone to moisturize elastine fibers and/or to protect elastine fibers against the action of elastase and/or for the preparation of a cosmetic composition for the treatment of the skin, especially to combat the aging thereof.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01925

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
JP 9124453 A	13-05-1997	NONE	
EP 180559 A	07-05-1986	JP 61100512 A	19-05-1986
US 4839164 A	13-06-1989	CA 1322532 A	28-09-1993
JP 09077650 A	25-03-1997	NONE	
FR 2760365 A	11-09-1998	AU 6225698 A	22-09-1998
		BR 9808216 A	16-05-2000
		EP 0967968 A	05-01-2000
		WO 9838980 A	11-09-1998
FR 2762783 A	06-11-1998	AU 6850098 A	27-11-1998
		BR 9809589 A	04-07-2000
		EP 0979065 A	16-02-2000
		WO 9850013 A	12-11-1998
		PL 336592 A	03-07-2000
WO 9505155 A	23-02-1995	FR 2709061 A	24-02-1995
		AU 699585 B	10-12-1998
		AU 7539394 A	14-03-1995
		BR 9407305 A	08-10-1996
		CA 2169621 A	23-02-1995
		CN 1131389 A	18-09-1996
		CZ 9600451 A	17-07-1996
		EP 0714284 A	05-06-1996
		FI 960585 A	15-04-1996
		HU 75337 A	28-05-1997
		JP 9501672 T	18-02-1997
		NZ 271685 A	24-03-1997
		PL 313036 A	27-05-1996
		SK 18296 A	05-03-1997
		US 5910490 A	08-06-1999
FR 2269327 A	28-11-1975	DE 2421638 A	20-11-1975
		AT 335622 B	25-03-1977
		AT 336675 A	15-07-1976
		BE 828581 A	30-10-1975
		CH 598816 A	12-05-1978
		GB 1513053 A	07-06-1978
		IT 1037595 B	20-11-1979
		JP 50154439 A	12-12-1975
		NL 7504116 A	06-11-1975
		SE 403045 B	31-07-1978
		SE 7503963 A	05-11-1975
WO 9619099 A	27-06-1996	FR 2737971 A	28-02-1997
		AU 5407796 A	10-07-1996
		BE 1009858 A	07-10-1997
		CA 2202629 A	27-06-1996
		CH 690489 A	29-09-2000
		DE 19680859 T	02-10-1997
		ES 2129013 A	16-05-1999
		GB 2308811 A,B	09-07-1997
		IT T0960710 A	20-02-1998
		JP 10509735 T	22-09-1998
		NL 1003883 C	27-02-1997

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01925

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
---	---------------------	----------------------------	---------------------

WO 9619099 A

NL 1003883 A

27-02-1997

US 5801192 A

01-09-1998

-----

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT 00/01925

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7: A61K 7/48 A61K 7/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7: A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	n° des revendications visées
X	DATABASE WPI Week 9729 Derwent Publications Ltd., London, GB; An 1997-316455 & JP 09 124453 A (JAPAN HAPPY KK) abrégé	7,10,18
X	EP 0180 559 A (ORENTREICH) 7 mai 1986 (1986-05-07) cité dans la demande le document en entier	7,10,18
X	US 4 839 164 A (SMITH) 13 juin 1989 (1989-06-13) cité dans la demande le document en entier	7,10,18
	-/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents.☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe.

\* Catégories spéciales de documents cités :

"A" document définissant l'état général de la technique, n'étant pas considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais après la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour permettre de comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&amp;" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche a été effectivement achevée

17 janvier 2001 (17.01.01)

Date d'expédition du rapport de recherche

3 avril 2001 (03.04.01)

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

O.E.B.

Fonctionnaire autorisé

n° de télécopieur

n° de téléphone

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PT/FR 00/01925

C (suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	n° des revendications visées
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1997, no. 07 (C & JP 09 077650 A (AJINOMOTO CO) cité dans la demande abrégé	7,10,18
A	FR 2 760 365 A (ROC) 11 septembre 1998 (1998-09-11) le document en entier	1-7,10,18
A	FR 2 762 783 A (ROC) 6 novembre 1998 (1998-11-06) le document en entier	1-7,10,18
A	WO 95 05155 A (ROBERT ET AL.) 23 février 1995 (1995-02-23) le document en entier	1-7,10,18
A	FR 2 269 327 A (HENKEL) 28 novembre 1975 (1975-11-28) le document en entier	1-6
A	WO 96 19099 A (LVMH RECHERCHE) 27 juin 1996 (1996-06-27) le document en entier	1-6



**Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)**

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

**Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)**

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup> 1-6, 7 (partiellement), 10, 18 (partiellement)

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

1. revendications: 1-6,7(partiellement), 10,18(partiellement)

1. OUI: procédé de criblage de molécules susceptibles d'améliorer l'élasticité de la peau et utilisation d'une molécule de tréhalose seule pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

2. revendications: 7-8,14,17-18

2. NON: utilisation d'une molécule de trehalose en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi le rétinol et ses dérivés, l'acide rétinoïque et ses dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

3. revendications: 7-9,15,17-18

3. NON: utilisation d'une molécule de rétinol et ses dérivés seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi l'acide rétinoïque et ses dérivés, la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

4. revendications: 7-8,16-18

4. NON: utilisation d'une molécule d'acide rétinoïque et ses dérivés seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi la taurine, l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

5. revendications: 7-8,11,17-18

## SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

5. NON: utilisation d'une molécule de taurine seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

## 6. revendications: 7-8,17-18

6. NON: utilisation d'une molécule d'acide lactique seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi l'acide glycolique, l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

## 7. revendications: 7-8,17-18

7. NON: utilisation d'une molécule d'acide glycolique seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi l'acide phytique, l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

## 8. revendications: 7-8,12,18

8. NON: utilisation d'une molécule d'acide phytique seule ou en combinaison avec des molécules sélectionnées parmi l'acide malique, le hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

## 9. revendications: 7-8,13,18

9. NON: utilisation d'une molécule d'acide malique seule ou en combinaison avec une molécule de hyaluronane digéré par la hyaluronidase pour hydrater les fibres d'élastine et/ou

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

10. revendications: 7-8,18

10. NON: utilisation d'une molécule de hyaluronane digéré par la hyaluronidase seule, pour hydrater les fibres d'élastine et/ou pour protéger les fibres d'élastine contre l'action de l'élastase et/ou pour la préparation d'une composition cosmétique destinée au traitement de la peau, en particulier pour lutter contre son vieillissement.

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres des familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 901925

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
JP 9124453 A	13-05-1997	AUCUN	
EP 180559 A	07-05-1986	JP 61100512 A	19-05-1986
US 4839164 A	13-06-1989	CA 1322532 A	28-09-1993
JP 09077650 A	25-03-1997	AUCUN	
FR 2760365 A	11-09-1998	AU 6225698 A	22-09-1998
		BR 9808216 A	16-05-2000
		EP 0967968 A	05-01-2000
		WO 9838980 A	11-09-1998
FR 2762783 A	06-11-1998	AU 6850098 A	27-11-1998
		BR 9809589 A	04-07-2000
		EP 0979065 A	16-02-2000
		WO 9850013 A	12-11-1998
		PL 336592 A	03-07-2000
WO 9505155 A	23-02-1995	FR 2709061 A	24-02-1995
		AU 699585 B	10-12-1998
		AU 7539394 A	14-03-1995
		BR 9407305 A	08-10-1996
		CA 2169621 A	23-02-1995
		CN 1131389 A	18-09-1996
		CZ 9600451 A	17-07-1996
		EP 0714284 A	05-06-1996
		FI 960585 A	15-04-1996
		HU 75337 A	28-05-1997
		JP 9501672 T	18-02-1997
		NZ 271685 A	24-03-1997
		PL 313036 A	27-05-1996
		SK 18296 A	05-03-1997
		US 5910490 A	08-06-1999
FR 2269327 A	28-11-1975	DE 2421638 A	20-11-1975
		AT 335622 B	25-03-1977
		AT 336675 A	15-07-1976
		BE 828581 A	30-10-1975
		CH 598816 A	12-05-1978
		GB 1513053 A	07-06-1978
		IT 1037595 B	20-11-1979
		JP 50154439 A	12-12-1975
		NL 7504116 A	06-11-1975
		SE 403045 B	31-07-1978
		SE 7503963 A	05-11-1975
WO 9619099 A	27-06-1996	FR 2737971 A	28-02-1997
		AU 5407796 A	10-07-1996
		BE 1009858 A	07-10-1997
		CA 2202629 A	27-06-1996
		CH 690489 A	29-09-2000
		DE 19680859 T	02-10-1997
		ES 2129013 A	16-05-1999
		GB 2308811 A,B	09-07-1997
		IT T0960710 A	20-02-1998
		JP 10509735 T	22-09-1998
		NL 1003883 C	27-02-1997

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/00/01925

Document brevet cité  
au rapport de recherche

Date de  
publication

Membre(s) de la  
famille de brevet(s)

Date de  
publication

WO 9619099 A

NL 1003883 A  
US 5801192 A

27-02-1997  
01-09-1998

---

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**